



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA – PIBIC

**TENSÃO SUPERFICIAL E SUA RELAÇÃO COM A BIOATIVIDADE
DE VIDROS**

PVB6794-2018 - Óxidos do tipo MO e a reatividade de superfície de vidros bioativos

Área do conhecimento: Ciências dos Materiais

Subárea do conhecimento: Biomateriais

Especialidade do conhecimento: Tensão superficial de vidros bioativos

Relatório Final

Período da bolsa: de (08/2018) a (07/2019)

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica

PIBIC/CNPq

Orientador: Euler Araújo dos Santos

Autor: Camila Miranda Fonseca Duarte

Sumário

Sumário	2
1. Introdução	3
2. Objetivos.....	5
3. Metodologia	5
3.1. Síntese dos vidros bioativos.....	5
3.1.1. Vidro bioativo controle	5
3.1.2. VIDROS BIOATIVOS CONTENDO CuO	6
3.2. Caracterização dos vidros bioativos	6
3.2.1. Composição elementar.....	6
3.2.2. Análises térmicas	7
3.2.3. Porosidade e área de superfície	7
3.2.4. Difração de raios X.....	7
3.3. Ensaio de Bioatividade.....	7
3.4. Ensaio de capilaridade	8
4. Resultados e discussões	10
4.1. Composição elementar	10
4.2. Análises térmicas	11
4.3. Porosidade e área superficial	12
4.4. Análise estrutural	13
4.5. Ensaio de capilaridade.....	14
5. Conclusões	17
6. Perspectivas de futuros trabalhos.....	18
7. Referências bibliográficas	18

1. Introdução

Uma das principais propriedades de um biomaterial é sua biocompatibilidade, a qual é definida como o grau de compatibilidade entre um material e tecidos ou órgãos do corpo humano quanto a ausência de toxicidade, nocividade ou resposta imunológica contrária. Assim, os biomateriais têm se tornado cada vez mais complexos em termos estruturais de modo a apresentar alta biocompatibilidade e eficiência em aplicações específicas no corpo [1]. No entanto, como as interações entre agentes biológicos (proteínas, fatores de crescimento e células) e um biomaterial acontece primordialmente pelo contato desses agentes com a superfície, o estudo das propriedades de superfície (tensão superficial, cargas, rugosidade, etc) pode trazer importantes contribuições para a compreensão da biocompatibilidade desses materiais [2–4].

Imediatamente após a sua implantação no corpo, a superfície do biomaterial irá sofrer transformações pelo contato direto com os fluidos biológicos. Essas transformações vão desde dissolução, até precipitação, passando por troca iônica, adsorção de íons, proteínas e várias outras moléculas presentes no meio extracelular [5]. As células só alcançam essa superfície quando várias dessas transformações já iniciaram, principalmente a adsorção de proteínas e os processos de dissolução/precipitação. Portanto, são essas transformações que irão definir a biocompatibilidade do material e sua eficiência, em última instância [4,6,7]. No entanto, a força motriz para várias dessas transformações é proveniente da energia armazenada na superfície do material. Avaliar a tensão superficial de biomateriais pode servir como um parâmetro para se prever, portanto, a sua biocompatibilidade ou, pelo menos, a susceptibilidade desses materiais em se transformar superficialmente quando implantados no corpo humano.

Diversos métodos são usados para se medir a tensão superficial de materiais, com destaque o método da gota, o qual se fundamenta na medição do ângulo de contato entre o menisco formado por uma gota de líquido e a superfície de um material [8,9]. Como esse ângulo é dependente da tensão do líquido usado e da tensão superficial do material, é possível o cálculo exato da energia de superfície do material usando-se líquidos de diferentes tensões. Outro método menos usado, mais bastante útil na área de materiais, é o método de Washburn [10–13], que se baseia nas forças de ascensão de um líquido num meio poroso compactado num capilar, cuja velocidade de ascensão do líquido no capilar é dependente também da

relação entre as tensões superficiais dos líquidos envolvidos nas análises e a tensão da superfície. As velocidades podem ser diretamente aplicadas na equação de Washburn [11,13], o que permite encontrar os valores dos ângulos de contato dos líquidos sobre o material.

Estudos relacionando as tensões superficiais e as suas relações com a biocompatibilidade vêm crescendo, mas além da biocompatibilidade, a bioatividade desses materiais, que é exatamente a capacidade desses materiais em se transformarem em meio biológico, também é afetada pelas tensões superficiais [14,15]. Dentre todos os biomateriais cerâmicos, os vidros bioativos são os materiais de maior bioatividade, e seu desenvolvimento tem permitido grandes avanços na produção de implantes e enxertos voltados à regeneração do tecido ósseo [16–18]. Quando em contato com fluidos biológicos, a superfície dos vidros bioativos reage com íons presentes no meio, gerando uma camada de apatita, similar àquela encontrada na fase mineral óssea [15,19,20]. Essa camada de apatita formada, quando em contato com fluido biológico, é responsável pela alta compatibilidade associada aos biovidros.

Dessa forma, estudar as mudanças na tensão superficial de vidros bioativos antes e após o processo de transformação superficial em fluido biológico pode nos trazer subsídios para criar o método de previsão da bioatividade desses materiais e sua biocompatibilidade, sem a necessidade de efetivamente proceder os experimentos, os quais levam tempo e são geralmente extremamente caros.

Na literatura existem vários trabalhos que determinam a tensão superficial de biomateriais, especialmente de fosfatos de cálcio e ligas metálicas biocompatíveis, tentando prever comportamentos de adsorção de proteínas, células, formação de placa bacteriana e até mesmo de camada de apatita [4,21,22]. No entanto, não existe (até onde é do nosso conhecimento) tentativas objetivas de se correlacionar a tensão superficial de vidros bioativos e o grau de transformação de superfície a que eles são acometidos. Portanto, o presente projeto se caracteriza como uma tentativa inicial de correlacionar as transformações nas superfícies de vidros bioativos 58S (58% SiO₂; 38% CaO; 4% P₂O₅, % em mol) e sua tensão superficial. Como forma de se promover diferenças significativas de tensão superficial entre os vidros estudados, o óxido de cobre (CuO) foi o óxido escolhido para se substituir o óxido de cálcio (CaO) na composição original do vidro 58S. O Cu²⁺ é conhecido por sua ação angiogênica (estimuladora da formação do sistema vascular) [23–25] e ação bactericida

[23,26] em associação a biomateriais. Essa última propriedade está diretamente ligada a sua capacidade de evitar a adesão de bactérias pela alteração de hidrofobicidade do material [27]. Portanto, apesar do plano de trabalho original apontar para o uso dos óxidos MgO, SrO and ZnO, optou-se pelo uso do CuO nos estudos iniciais pela sua evidente capacidade de alteração de molhabilidade de superfície de diversos biomateriais, assim como, pelo conhecimento já estabelecido de síntese desse tipo de vidro pelo grupo de pesquisa.

2. Objetivos

- Geral: Avaliar como a adição do CuO na composição do vidro bioativo 58S afeta a tensão superficial deste e, por consequência, sua bioatividade.
- Específicos:
 - Sintetizar e caracterizar vidros bioativos com diferentes teores de óxido de cobre (0%, 1% e 3%);
 - Determinar a tensão superficial dos vidros a partir do método de ascensão capilar usando-se a equação de Washborn;
 - Avaliar a bioatividade do material por imersão em solução simulatória de fluído corpóreo (SBF);
 - Buscar relações entre as variações de tensão superficial e a formação de apatita na superfície do material.

3. Metodologia

3.1. Síntese dos vidros bioativos

3.1.1. Vidro bioativo controle

Vidros bioativos conhecidos como 58S (58% SiO₂; 38% CaO; 4% P₂O₅, % em mol) foram sintetizados seguindo uma adaptação do método de Liu e Miao (2004), obtido via sol-gel pela reação entre TEOS (tetraetilortosilicato, Si(OC₂H₅)₄), TEP (triethylfosfato, OP(OC₂H₅)₃), nitrato de cálcio tetra hidratado (Ca(NO₃)₂.4H₂O) (Tabela 1).

Tabela 1: Quantidades dos reagentes utilizados para a produção dos diferentes vidros

Reagentes	BV 0%CuO	BV 1%CuO	BV 3%CuO
HNO ₃	48,7 ml	48,7 ml	48,7 ml

TEOS	22,7 ml	22,7 ml	22,7 ml
TEP	4,5 ml	4,5 ml	4,5 ml
Ca(NO₃)₂	14,31 g	13,91 g	13,11 g
Cu(NO₃)₂	-	0,41 g	1,23 g

Primeiramente ácido nítrico (HNO₃) 0,1 mol L⁻¹ foi adicionado ao TEOS e deixados em agitação por 1 h a temperatura ambiente, para iniciar a hidrólise do TEOS. Após esse período foi adicionado o TEP, ainda sob agitação, por mais 45 min. Em seguida, o Ca(NO₃)₂.4H₂O por mais 1 hora. Por fim, as soluções foram dispostas em placas de Petri e armazenadas, por 10 dias, em temperatura ambiente para que ocorresse o processo de gelificação. Logo após a gelificação, foram levadas para estufa a 60°C por 72 h e, em seguida, por mais 48 h a 120°C.

Após secagem, o vidro obtido foi moído e peneirado numa peneira (80 mesh) e armazenado em recipiente livre de umidade para posterior tratamento térmico (calcinação) e caracterização. O vidro foi calcinado a 700°C por 1 h, passando por um patamar de 300°C por 1 h, em um forno tipo Mufla sob taxas de aquecimento de 5°C/min.

3.1.2. Vidros bioativos contendo CuO

Para os vidros contendo CuO, foi utilizado o mesmo procedimento adotado no item 3.1.1. Após a adição de todos os reagentes, com as concentrações de nitrato de cálcio reduzidas, foi adicionado o Cu(NO₃)₂ e deixado também sob agitação por 1 h em temperatura ambiente. Todo processo de gelificação, secagem e calcinação foi similar ao descrito anteriormente.

Os vidros obtidos foram nomeados de acordo com o teor de CuO, como segue: BV 0%CuO, BV 1%CuO e BV 3%CuO.

3.2.Caracterização dos vidros bioativos

3.2.1. Composição elementar

A composição elementar das amostras foi determinada por fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (*wavelength-dispersive X-ray fluorescence*, WDXRF). As análises foram realizadas com as amostras em pó em atmosfera de He, calcinadas em 700°C, num espectrofotômetro BRUKER S8 TINGER 4kW.

3.2.2. Análises térmicas

O comportamento térmico do vidro bioativo foi estudado por meio de análise termogravimétrica e análise térmica diferencial (TGA/DTA) em um equipamento STA 449 F3 Jupiter, em busca da temperatura de transição vítrea, de forma que fossem determinados os parâmetros ideais de calcinação. As análises foram feitas com aproximadamente 60 mg da amostra obtida logo após a secagem completa do gel, em atmosfera de N₂, com fluxo de 50 mL min⁻¹. As amostras foram aquecidas em cadinhos de platina a uma taxa de aquecimento de 10°C/min, a partir da temperatura ambiente até 1100°C.

3.2.3. Porosidade e área de superfície

As análises de porosimetria gasosa foram realizadas através da adsorção de N₂ a 77 K em um equipamento da Quantachrome modelo NOVA-2000. Antes de cada análise cerca de 0,5 g de amostra, previamente calcinada, foi pré-tratada a 150°C sob vácuo por 2 horas. Esse tratamento visa remover a umidade da superfície do sólido. As isotermas de adsorção de N₂ foram obtidas na faixa de P/Po variando de 0,05 a 0,99. A área superficial foi obtida através do método Brunauer–Emmett–Teller (BET) e o volume de poros pelo método Barrett-Joyner-Halenda (BJH).

3.2.4. Difração de raios X

Para confirmar a obtenção de um material sem organização de longo alcance após tratamento térmico em 700°C, as amostras foram analisadas por difração de raios X (DRX). Os difratogramas foram obtidos a partir dos difratômetros BRUKER D8 Advance – para as amostras antes da imersão – e o SHIMADZU LABX XRD-6000 – para as amostras após a imersão – usando uma fonte de CuK α (λ = 1,5405 Å) produzido a 40 kV e 40 mA, em um ângulo de difração 2 θ na faixa entre 10° a 60°, com uma velocidade de varredura 2°/min.

3.3. Ensaio de Bioatividade

O estudo da bioatividade se deu por imersão das amostras em solução que simula o fluido corpóreo (SBF – *Simulated Body Fluid*), numa razão de 10 mg de pó/mL de SBF, durante um período de 7 dias a 36°C. Após o período, as soluções foram filtradas a vácuo, e os pós de vidro bioativo retidos no filtro foram secos à 120°C por 24 h e armazenados para caracterização posterior. Os pós foram analisados por FRX e DRX seguindo os mesmos

procedimentos citados nos tópicos 3.2.1 e 3.2.4, respectivamente, e em seguida, submetidos ao ensaio de capilaridade.

3.4. Ensaio de capilaridade

Para medição da tensão superficial foi utilizado o método de ascensão capilar baseado na equação de Washburn [2], analisando-se a velocidade de penetração de líquidos de tensões conhecidas em função do tempo num capilar preenchido com o vidro a ser analisado na forma de pó. A ascensão foi indiretamente medida pela variação de massa no capilar a medida em que a ascensão ocorria.

O capilare (diâmetros de 2,1 mm e altura média de 6,7 cm), fechados com algodão hidrofílico em um dos lados, foram preenchidos com o pó dos vidros previamente secos em estufa à 120°C por 30 min. Os pós do vidro sintetizado foram compactados nos capilares via compactação mecânica manual até que não se verificasse mais variação de volume. Os ensaios foram realizados utilizando-se líquidos com tensão total, polar e dispersiva conhecidas (tabela 2): água deionizada, etanol e *n*-hexano. Para cada líquido, cinco ascensões foram realizadas para cada tipo de vidro ($n = 5$).

Tabela 2: Propriedades dos líquidos utilizados na capilaridade

Líquidos	Densidade (g/mL)	Viscosidade (cP)	Tensão superficial (mJ/m ²)		
			γ_L	γ_L^D	γ_L^P
Água	0,997	1,002	72,8	21,8	51,0
Etanol	0,789	1,144	21,4	18,8	2,6
n-Hexano	0,659	0,326	18,4	18,4	-

Os experimentos foram realizados numa balança de precisão com o aparato mostrado na figura 1, para adaptação ao ensaio, sendo zerada com o peso do capilar e após o primeiro contato com o líquido de ascensão. A coleta dos pontos foi iniciada com a balança zerada e a massa foi anotada em intervalos de 1 min, contabilizando 10 pontos por capilar. Esse procedimento foi repetido em todas as três composições de vidro: BV-0%CuO, BV-1%CuO e BV-3%CuO.

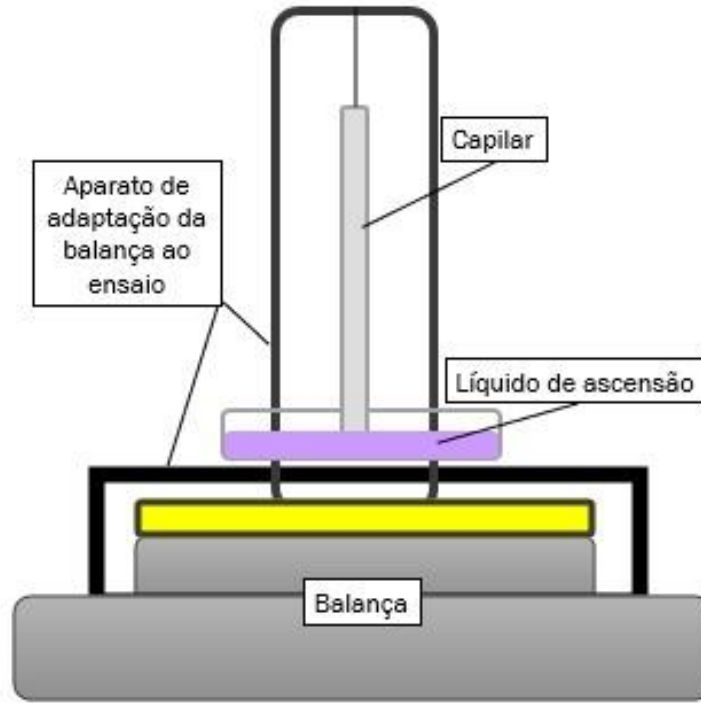


Figura 1: Aparato utilizado para o ensaio de ascensão no capilar.

Os ensaios de capilaridade para os vidros bioativos após teste de bioatividade foram realizados da mesma forma que para as amostras antes da bioatividade, com coleta de 6 a 7 pontos por capilar.

Os cálculos dos ângulos de contato dos líquidos nos pós foram realizados usando-se a equação de Washburn baseada na variação da altura da ascensão [6,13], isso foi possível através da proporcionalidade entre os coeficientes angulares, obtidos nos gráficos $M^2 \times t$, da massa e altura, sendo assim aplicada a equação 1:

$$\frac{h^2}{t} = \frac{2r \times \gamma_L}{\eta} \times \cos(\theta) \quad (\text{Equação 1})$$

Onde h é a altura da ascensão do líquido no capilar (cm), t o tempo (s), r é a constante de Washburn, γ e η são constantes conhecidas dos líquidos de ascensão utilizados, sendo elas a tensão superficial e a viscosidade, respectivamente, e θ é o ângulo de contato.

Para definir o r , constante dependente do raio entre as partículas e compactação do pó, foi utilizado os dados do n -hexano, (tabela 2) pela sua molhabilidade total no sólido ($\cos(\theta) = 1$) e γ e η também conhecidas, aplicando-os na equação 1. Para o presente projeto,

a taxa de ascensão foi diretamente proporcional a quantidade de massa ascendida no capilar e medida por meio da balança. Portanto, as inclinações nas curvas de $M^2 \times t$ (proporcionais a h^2/t) foram consideradas nos cálculos das tensões. Foram calculados r para cada composição do pó, antes e depois do ensaio de bioatividade. Os ângulos de contato da água e do etanol foram determinados também pela equação 1, utilizando o respectivo valor de r para cada composição e as propriedades de cada líquido.

As tensões superficiais polares e dispersivas das amostras em suas composições específicas, foram calculadas utilizando a equação de Owens-Wendt abaixo [29]:

$$(1 + \cos(\theta))\gamma_L = 2 [(\gamma_S^D \gamma_L^D)^{\frac{1}{2}} + (\gamma_S^P \gamma_L^P)^{\frac{1}{2}}] \quad (\text{Equação 2})$$

Com os ângulos encontrados na equação 1 para cada líquido em suas respectivas composições, e os valores de tensão polar (γ_L^P) e dispersiva (γ_L^D) dos líquidos calculou-se os valores das tensões para todas as composições do pó, antes e depois da bioatividade utilizando-se um sistema de duas equações, uma equação para cada líquido (água e etanol) ângulo de contato diferente de zero.

4. Resultados e discussões

4.1. Composição elementar

Por meio das análises de WDXRF foi possível definir a composição original do vidro bioativo obtido (gráfico 1). A quantidade dos óxidos identificados foi normalizada pela quantidade total de óxidos identificados na análise (% peso). Para todas as amostras, os valores experimentais antes da bioatividade, estão muito próximos aos valores calculados, mostrando assim consistência no processo de obtenção das amostras. É possível notar a influência do CuO como substituinte do CaO na rede. Após o ensaio de bioatividade, ocorre a dissolução da rede vítrea e, portanto, os íons SiO_4^{4-} são liberados para o SBF, apresentando valores menores para as amostras de pó analisadas, como mostra o gráfico 1, porém, diferente do apontado, em estudos anteriores [25,30], a presença do cobre, nas porcentagens propostas, não demonstrou influência sobre a liberação de Si para o meio. Por outro lado, o SBF apresenta íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} , que irão precipitar na superfície do vidro bioativo, formando uma camada fosfato de cálcio ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5$).

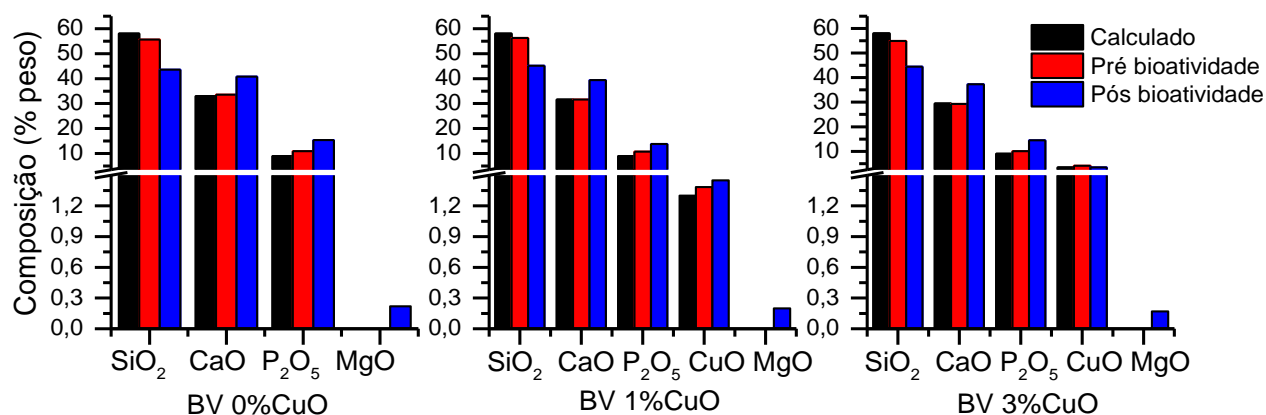


Gráfico 1: Gráficos comparativos das composições elementares dos vidros bioativos.

Assim, os valores de CaO e P₂O₅ são esperados a aumentar na superfície do vidro bioativo, como é possível ver no gráfico 1. Além disso, o SBF contém outros íons como o Mg²⁺ que podem precipitar juntamente com Ca²⁺ e PO³⁻, passando a fazer parte da camada de fosfato de cálcio precipitada. A presença de MgO após bioatividade nos vidros bioativos analisados comprova a deposição desse elemento na camada precipitada e parece não ser influenciada pelo teor de CuO presente nas amostras.

4.2. Análises térmicas

Os dados obtidos pelas técnicas de TGA e DTA são mostrados no gráfico 2. São visualizados quatro eventos significativos. O primeiro, entre 100°C e 200°C, referente a evaporação de água e etanol remanescente na estrutura do gel. O segundo entre 200°C e 300°C refere-se à liberação da água estrutural resultante da condensação dos grupos silanol durante a formação da rede vítrea. O terceiro evento, entre 300°C e 400°C, refere-se à evaporação do TEP que não reagiu entrando na rede. Por fim, o quarto evento, entre 500°C e 600°C, indica a decomposição dos nitratos restantes.

A partir de 700°C a perda de massa se tornou insignificante, o que indica a completa eliminação dos subprodutos da reação (água, etanol e nitratos) e a formação final da estrutura de vidro a partir do xerogel. Portanto, a ausência de eventos pronunciados de perda de massa acima dessa temperatura nos permite associar os eventos observados nas curvas de DTA às modificações estruturais (transição vítrea, cristalização ou transformação de fase). As temperaturas de transição vítrea (T_g) para cada composição de biovidros foi observada a partir

de uma leve mudança da linha de base das curvas DTA entre 650 e 700°C. O teor de CuO parece não influenciar a T_g dos biovidros.

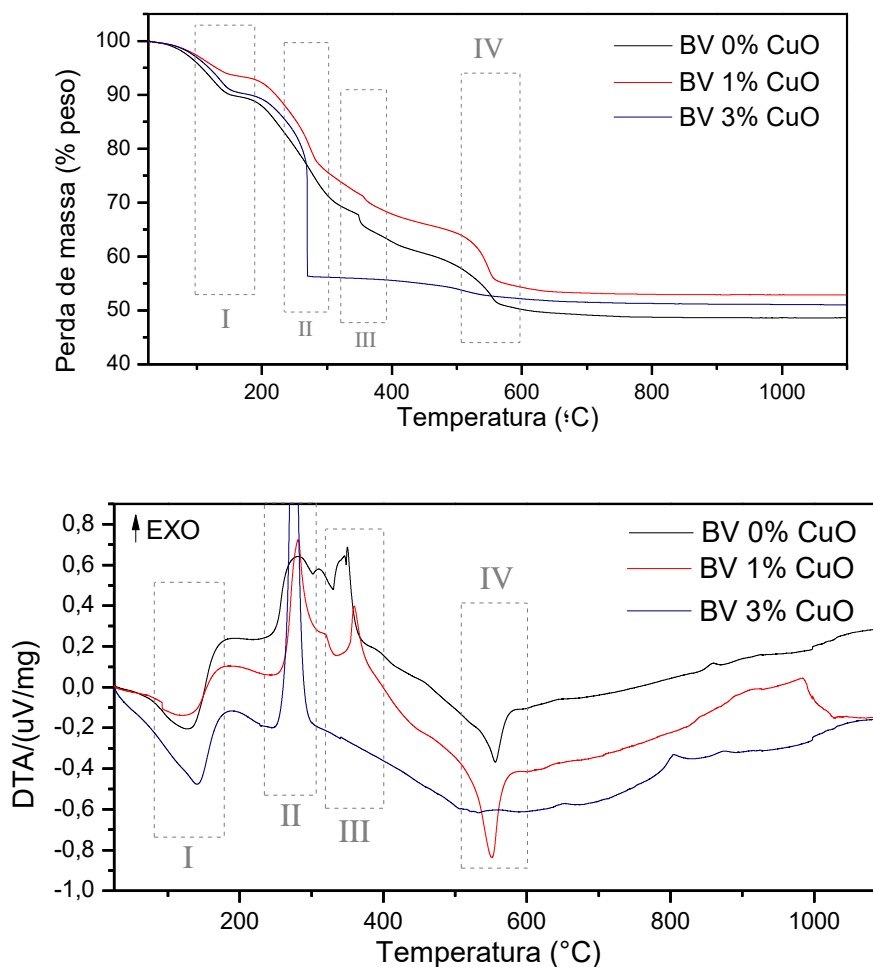


Gráfico 2: Análise térmica (TG e DTA) das amostras de vidro bioativo.

4.3. Porosidade e área superficial

Através da análise no BET foi possível obter a área de superfície do pó obtido, bem como sua porosidade. Os dados obtidos estão listados na tabela 3. Os valores de área superficial e volume de poros obtidos para todas as composições podem ser observados na tabela 3. O aumento do teor de CuO em 1% parece não ter influenciado a área superficial ($87,30 \pm 4,66$) e volume de poros (0,164) quando comparado com a composição sem CuO ($92,46 \pm 4,68$; 0,170). No entanto, um maior aumento do teor de CuO (3%) aumentou substancialmente o valor da área superficial ($139,36 \pm 9,51$) e volume de poros (0,198).

Tabela 3: Valores de área superficial e porosidade dos vidros bioativos

	BV 0%CuO	BV 1%CuO	BV 3%CuO
S_{BET} (m²/g)	92,46 ± 4,68	87,30 ± 4,66	139,36 ± 9,51
Volume poro (c³/g)	0,170	0,164	0,198

Vidros obtidos por sol-gel normalmente apresentam área superficial com duas ordem de grandeza maiores que aquelas apresentadas pelos vidros obtidos por fusão, sendo em média 200 m²/g [31]. Para todas as composições, os valores de área superficial estão de acordo com a literatura. Essas mudanças são de extrema relevância para o estudo da reatividade e bioatividade da superfície do vidro.

4.4. Análise estrutural

O estudo estrutural dos vidros bioativos calcinados à 700°C foram analisados por meio de DRX, trazendo uma perceptível fase amorfa num halo entre 20° e 30° (gráfico 3), bem como pequenos picos alargados de baixa intensidade que correspondem a fases de hidroxiapatita nanocristalina ou de baixo ordenamento (JCPDS 01-1008). Ressalta-se que sempre é muito difícil verificar com nitidez a T_g desses sistemas vítreos, portanto, as análises de DRX nos ajuda a confirmar o estado desordenado do sistema. Nas amostras contendo CuO foi possível observar pequenos picos sobre os halos em entre 25° e 30° que podem ser associados à formação de fosfato de cobre hidratado (JCPDS 01-0054).

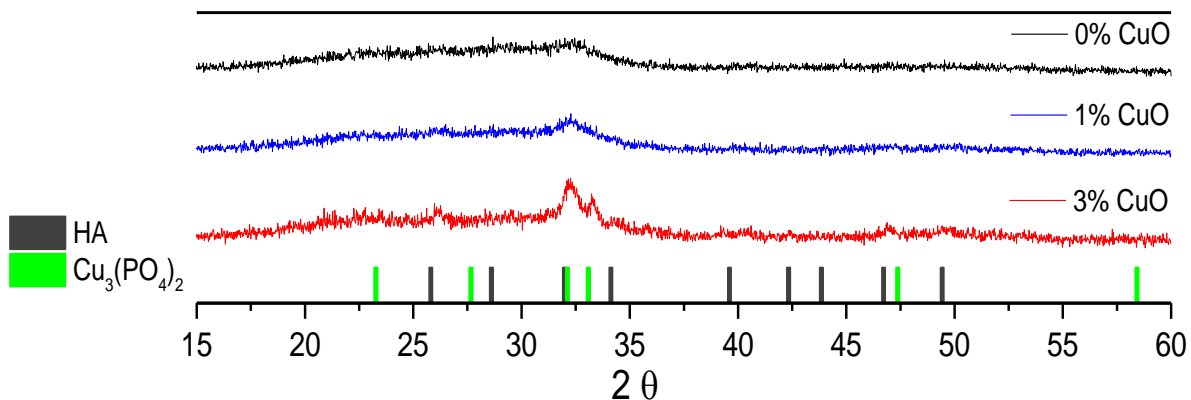


Gráfico 3: DRX das amostras de vidro bioativo.

Na análise das amostras após a imersão em SBF (gráfico 4), como esperado, é evidente os picos referentes a cristalização de HA próximo a 25° e 32°, ao passo que a fase de fosfato de cobre parece ter sido dissolvido em SBF. Embora não seja possível quantificar a fase de HA formada sem um refinamento Rietveld, estima-se que as variações de cobre nas amostras não trouxeram grandes influências na cristalização da HA em superfície.

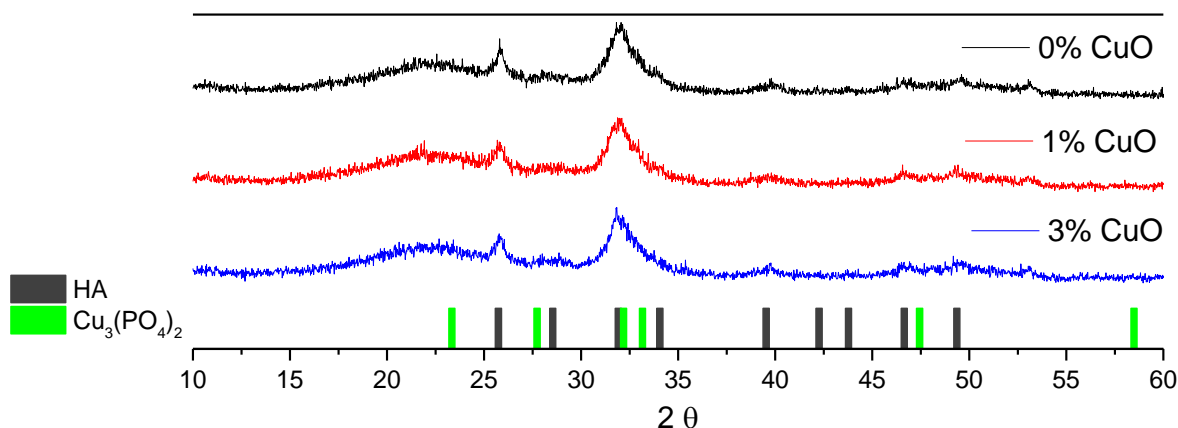


Gráfico 4: DRX das amostras após imersão em SBF.

4.5. Ensaios de capilaridade

A partir dos ensaios de capilaridade por variação de massa, foram plotados gráficos de massa² por tempo (gráficos 5 e 6) onde fica claro a diferença nos coeficientes angulares evidenciando as diferentes molhabilidades dos líquidos nas amostras, antes e depois do SBF. Ao observar as curvas, pode-se notar também que a mudança de composição tem uma influência considerável na compactação do pó nos capilares, visto que as variações nos coeficientes angulares do *n*-hexano são reflexo do estado de compactação do material, sendo o BV-3%CuO o de menor variação entre as curvas, o que reforça os resultados obtidos pelo BET, onde essa composição possuiu a maior área superficial – ou seja, partículas menores – dentre as demais composições, e é conhecido que o tamanho das partículas interfere diretamente na compactação [11], melhorando-a.

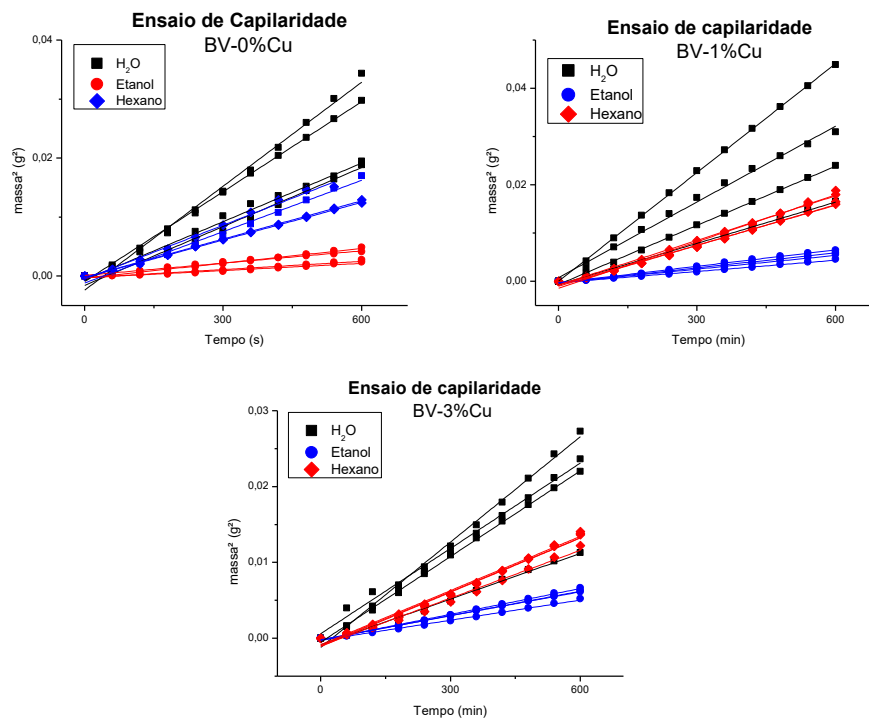


Gráfico 5: Dados da capilaridade antes da imersão em SBF.

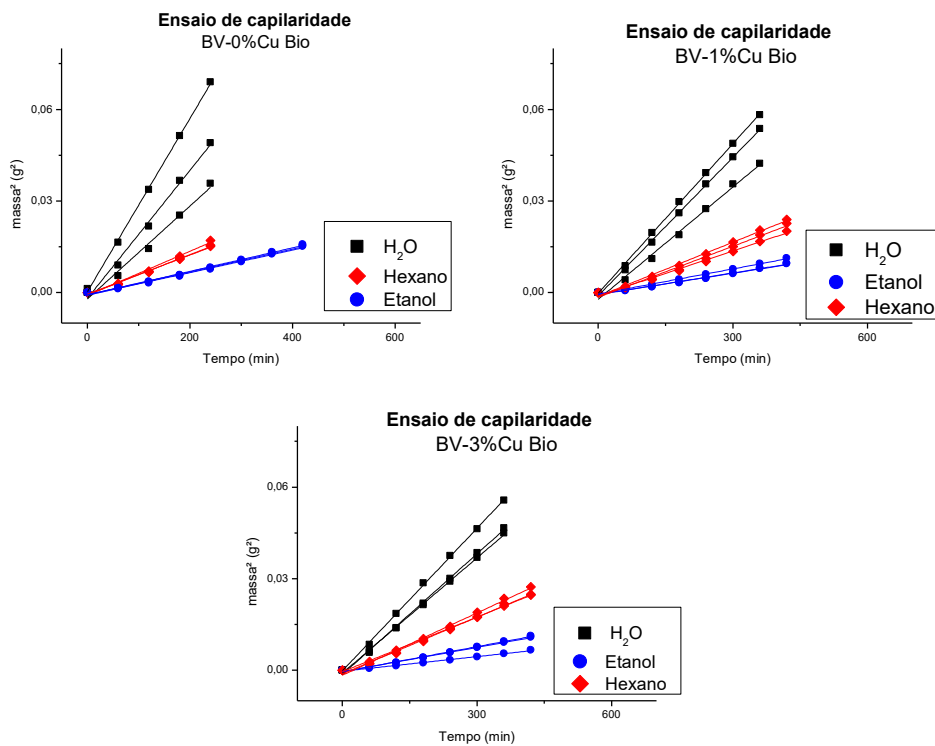


Gráfico 6: Dados de capilaridade depois da imersão em SBF.

A partir dos coeficientes angulares das curvas mostradas foram calculados os valores de tensão superficial polar e dispersiva das amostras. Os dados obtidos estão demonstrados no gráfico 7.

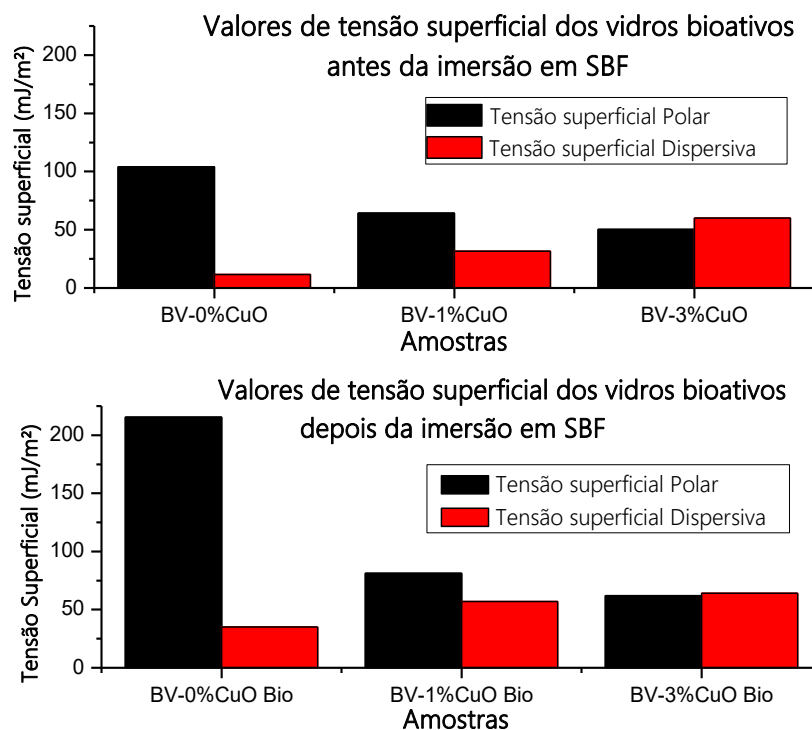


Gráfico 7: Valores comparativos de tensão superficial das amostras.

Ao observar as variações das tensões superficiais nos vidros antes da imersão, pode-se inferir que a presença do cobre na rede vítrea reduziu as tensões polares, e aumentou as dispersivas, das amostras de forma proporcional ao aumento da sua concentração, deixando as amostras mais hidrofóbicas. Esse aumento de hidrofobicidade causado pela presença de Cu também foi verificado num trabalho recente que estuda o efeito do Cu em óxidos de zircônio contendo cálcio [32].

Comparando os dois gráficos apresentados é notório o aumento da tensão superficial polar da amostra sem cobre após a imersão em SBF, enquanto que, nas demais houveram acréscimos mais sutis em seus valores. Esse aumento é resultado da quebra das ligações entre o oxigênio e seus óxidos gerando uma superfície carregada de OH^- , camada de silanóis oriundos da cadeia de sílica dos vidros. As hidroxilas conferem a característica polar da superfície o que estimula, também, a cristalização da HA na superfície do material [5,33]. Esse comportamento também é observado nas amostras contendo CuO, uma vez que uma

camada de apatita foi formada na superfície. No entanto, parece claro que o CuO tem um efeito efetivo em evitar o aumento da hidrofiliabilidade dos vidros, mesmo após a transformação da superfície em meio de cultura.

Não foi possível encontrar um efeito direto das diferenças de energia de superfície iniciais e os parâmetros medidos de bioatividade (composição elementar e formação da camada de apatita). Os resultados indicam que mesmo com uma diferença grande de energia de superfície, o processo de formação de apatita na superfície seguiu independente dessa variação, sendo que as camadas formadas possuíam composições e estruturas parecidas. No entanto, não conseguimos informações adequadas sobre espessura dessas camadas e velocidade de formação delas, pois o ensaio de bioatividade foi realizado apenas para 7 dias. Provavelmente, um estudo mais detalhado sobre as taxas de formação das camadas pudesse revelar diferenças que não foram observadas pelos resultados atuais.

5. Conclusões

A partir dos dados obtidos, no presente projeto, foi possível definir através do método de Washburn os valores de tensão superficial dos vidros bioativos 58S9 puro e com adições de 1 e 3% de CuO, os quais demonstraram um caráter cada vez mais hidrofóbico para as amostras com CuO. Também foi confirmada a bioatividade dos vidros com a cristalização do mineral hidroxiapatita na superfície de todas as composições do material, o que reforça a sua bioatividade. Essa apatita foi formada para todas as condições e parecem similares em termos de composição e estrutura, concluindo-se que as diferenças de tensão não tiveram influência nessa transformação após 7 dias de imersão em meio de cultivo. No entanto, outros estudos que avaliem a evolução dessas camadas não apenas em 7 dias, mas em períodos mais curtos de tempo poderão indicar efeitos efetivos da tensão superficial na bioatividade, revelando se essas diferenças de tensão afetam a cinética de formação da apatita, mesmo se a longo prazo a camada formada seja similar.

6. Perspectivas de futuros trabalhos

Caracterizar a formação das camadas de apatita em períodos mais curtos e com ensaios que permitam um detalhamento maior de composição e estrutura.

7. Referências bibliográficas

- [1] Gilbert Triplett R, Budinskaya O. New Frontiers in Biomaterials. Oral Maxillofac Surg Clin North Am 2017;29:105–15. doi:10.1016/j.coms.2016.08.011.
- [2] Chibowski E, Hołysz L, Szcześ A. Application of thin-layer wicking method for surface free energy determination. Surf Innov 2017;5:9–20. doi:10.1680/jsuin.16.00029.
- [3] Hallab NJ, Bundy KJ, O'Connor K, Moses RL, Jacobs JJ. Evaluation of Metallic and Polymeric Biomaterial Surface Energy and Surface Roughness Characteristics for Directed Cell Adhesion. Tissue Eng 2001;7:55–71. doi:10.1089/107632700300003297.
- [4] Nakamura M, Hori N, Ando H, Namba S, Toyama T, Nishimiya N, et al. Surface free energy predominates in cell adhesion to hydroxyapatite through wettability. Mater Sci Eng C 2016;62:283–92. doi:10.1016/j.msec.2016.01.037.
- [5] Lopes MA, Monteiro FJ, Santos JD, Serro AP, Saramago B. Hydrophobicity, surface tension, and zeta potential measurements of glass-reinforced hydroxyapatite composites. J Biomed Mater Res 1999;45:370–5. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(19990615)45:4<370::AID-JBM12>3.0.CO;2-0.
- [6] Aasim M, Bibi NS, Vennapusa RR, Fernandez-Lahore M. Utilization of surface energetics approach to Understand protein interaction to ceramic hydroxyapatite. J Chem Technol Biotechnol 2013;88:1421–8. doi:10.1002/jctb.4065.
- [7] Webb K, Hlady V, Tresco PA. Relative importance of surface wettability and charged functional groups on NIH 3T3 fibroblast attachment, spreading, and cytoskeletal organization. J Biomed Mater Res 1998;41:422–30. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(19980905)41:3<422::AID-JBM12>3.0.CO;2-K.
- [8] Ponsonnet L, Reybier K, Jaffrezic N, Comte V, Lagneau C, Lissac M, et al. Relationship between surface properties (roughness, wettability) of titanium and titanium alloys and cell behaviour. Mater Sci Eng C 2003;23:551–60. doi:10.1016/S0928-4931(03)00033-X.
- [9] Wege HA, Holgado-Terriza JA, Rosales-Leal JI, Osorio R, Toledano M, Cabrerizo-Vílchez MÁ. Contact angle hysteresis on dentin surfaces measured with ADSA on drops and bubbles. Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp 2002;206:469–83. doi:10.1016/S0927-7757(02)00088-2.
- [10] Galet L, Patry S, Dodds J. Determination of the wettability of powders by the Washburn capillary rise method with bed preparation by a centrifugal packing technique. J Colloid Interface Sci 2010;346:470–5. doi:10.1016/j.jcis.2010.02.051.
- [11] Kirdponpattara S, Phisalaphong M, Newby B min Z. Applicability of Washburn capillary rise for determining contact angles of powders/porous materials. J Colloid Interface Sci 2013;397:169–76. doi:10.1016/j.jcis.2013.01.033.
- [12] Chibowski E, Hołysz L. On the use of washburn's equation for contact angle determination. J Adhes Sci Technol 1997;11:1289–301.

- doi:10.1163/156856197X00147.
- [13] Ji L, Shi B. A novel method for determining surface free energy of powders using Washburn's equation without calculating capillary factor and contact angle. *Powder Technol* 2015;271:88–92. doi:10.1016/j.powtec.2014.11.002.
 - [14] Rosmaninho R, Rizzo G, Muller-Steinhagen H, Melo LF. Study of The Influence of Bulk Properties and Surface Tension on the Deposition Process of Calcium Phosphate on Modified Stainless Steel. *Heat Exch Fouling Clean Fundam Appl* 2003.
 - [15] Hoppe A, Güldal NS, Boccaccini AR. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials* 2011;32:2757–74. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.01.004.
 - [16] Zheng K, Boccaccini AR. Sol-gel processing of bioactive glass nanoparticles: A review. *Adv Colloid Interface Sci* 2017;249:363–73. doi:10.1016/j.cis.2017.03.008.
 - [17] Krishnan V, Lakshmi T. Bioglass: A novel biocompatible innovation. *J Adv Pharm Technol Res* 2013;4:78. doi:10.4103/2231-4040.111523.
 - [18] Lopes JH, Fonseca EMB, Mazali IO, Magalhães A, Landers R, Bertran CA. Facile and innovative method for bioglass surface modification: Optimization studies. *Mater Sci Eng C* 2017;72:86–97. doi:10.1016/j.msec.2016.11.044.
 - [19] Santos SC, Barreto LS, dos Santos EA. Nanocrystalline apatite formation on bioactive glass in a sol–gel synthesis. *J Non Cryst Solids* 2016;439:30–7. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2016.02.013.
 - [20] Jones JR. Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomater* 2015;23:S53–82. doi:10.1016/j.actbio.2015.07.019.
 - [21] Cruz MAE, Ruiz GCM, Faria AN, Zancanela DC, Pereira LS, Ciancaglini P, et al. Calcium carbonate hybrid coating promotes the formation of biomimetic hydroxyapatite on titanium surfaces. *Appl Surf Sci* 2016;370:459–68. doi:10.1016/j.apsusc.2015.12.250.
 - [22] Combes C, Rey C. Adsorption of proteins and calcium phosphate materials bioactivity. *Biomaterials* 2002;23:2817–23. doi:10.1016/S0142-9612(02)00073-X.
 - [23] Li J, Zhai D, Lv F, Yu Q, Ma H, Yin J, et al. Preparation of copper-containing bioactive glass/eggshell membrane nanocomposites for improving angiogenesis, antibacterial activity and wound healing. *Acta Biomater* 2016;36:254–66. doi:10.1016/j.actbio.2016.03.011.
 - [24] Gérard C, Bordeleau LJ, Barralet J, Doillon CJ. The stimulation of angiogenesis and collagen deposition by copper. *Biomaterials* 2010;31:824–31. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.10.009.
 - [25] Stähli C, James-Bhasin M, Hoppe A, Boccaccini AR, Nazhat SN. Effect of ion release from Cu-doped 45S5 Bioglass® on 3D endothelial cell morphogenesis. *Acta Biomater* 2015;19:15–22. doi:10.1016/j.actbio.2015.03.009.
 - [26] Gupta N, Santhiya D, Murugavel S, Kumar A, Aditya A, Ganguli M, et al. Effects of transition metal ion dopants (Ag, Cu and Fe) on the structural, mechanical and antibacterial properties of bioactive glass. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 2018;538:393–403. doi:10.1016/j.colsurfa.2017.11.023.
 - [27] Aktug SL, Durdu S, Aktas S, Yalcin E, Usta M. Characterization and investigation of in vitro properties of antibacterial copper deposited on bioactive ZrO₂ coatings on zirconium. *Thin Solid Films* 2019;681:69–77. doi:10.1016/j.tsf.2019.04.042.
 - [28] Liu J, Miao X. Sol-gel derived bioglass as a coating material for porous alumina

- scaffolds. *Ceram Int* 2004;30:1781–5. doi:10.1016/j.ceramint.2003.12.120.
- [29] Benzarti K, Perruchot C, Chehimi MM. Surface energetics of cementitious materials and their wettability by an epoxy adhesive. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp* 2006;286:78–91. doi:10.1016/j.colsurfa.2006.03.007.
 - [30] Sen CK, Khanna S, Venojarvi M, Trikha P, Ellison EC, Hunt TK, et al. Copper-induced vascular endothelial growth factor expression and wound healing. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol* 2002;282:H1821–7. doi:10.1152/ajpheart.01015.2001.
 - [31] Kaur G, Pickrell G, Sriranganathan N, Kumar V, Homa D. Review and the state of the art: Sol-gel and melt quenched bioactive glasses for tissue engineering. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* 2016;104:1248–1275. doi:10.1002/jbm.b.33443.
 - [32] Koohkan R, Hooshmand T, Tahriri M, Mohebbi-Kalhari D. Synthesis, characterization and in vitro bioactivity of mesoporous copper silicate bioactive glasses. *Ceram Int* 2018;44:2390–9. doi:10.1016/j.ceramint.2017.10.208.
 - [33] Oliveira AL, Malafaya PB, Reis RL. Sodium silicate gel as a precursor for the in vitro nucleation and growth of a bone-like apatite coating in compact and porous polymeric structures. *Biomaterials* 2003;24:2575–84. doi:10.1016/S0142-9612(03)00060-7.